

III. TINJAUAN PUSTAKA

3.1. Taksonomi *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet

Fouquet dalam Lom dan Dykova, 1992, mengklasifikasikan *Ichthyophthirius multifiliis* ke dalam Filum Ciliophora, Kelas Oligohymenophore, Sub kelas Hymenostomatia, Ordo Hymenostomatida, Sub ordo Ophryogienidae, Genus *Ichthyophthirius*, dan Spesies *Ichthyophthirius multifiliis*, Fouquet.

Ichthyophthirius multifiliis (Ich) bentuknya bundar seluruh permukaan tubuhnya ditutupi oleh silia, yang berfungsi untuk bergerak dan penetrasi ke dalam kulit ikan. Kemudian memiliki sejumlah vakuola baik mikro maupun makro nukleus, makro nukleus berbentuk seperti tapal kuda yang merupakan ciri khas dari Ich. Ukurannya berkisar antara 0,5 – 1 mm dalam bentuk stadia trophozoid, sedangkan pada stadia theron berukuran 25 – 70 x 15 – 22 μm (Lom dan Dykova, 1992).

Ichthyophthirius multifiliis adalah parasit dari golongan protozoa yang biasa menyerang benih ikan air tawar pada usaha budidaya intensif, sebagai akibat dari penyerangan parasit ini dapat menyebabkan mortalitas sampai 100 %. Parasit ini bersifat obligat dan hidup atau tinggal di bawah epitelium kulit, insang dan sirip, serta memakan jaringan inangnya (Cunha dan Azevedo, 1990). Selanjutnya Cunha dan Azevedo, 1994 mengatakan bahwa Ich stadia dewasa dinamakan trophozoid akan lepas dari tubuh ikan, kemudian membentuk kista dan hidup bebas di perairan atau menempel pada substrat serta melanjutkan siklus hidupnya. Dalam siklus hidupnya terdiri dari dua fase yaitu fase hidup bebas dan parasit.

Adanya penetrasi dan perporasi theron ke dalam epitel kulit ikan dimungkinkan oleh adanya enzim yang dihasilkan Ich, seperti enzim hyalurodinase, asam phospat dan esterasi yang tidak spesifik. Enzim hyalurodinase juga digunakan dalam meruptur atau memecahkan dinding kista sehingga theron dapat keluar, selain itu juga digunakan untuk melarutkan lapisan tanduk atau lendir dari sisik, sehingga Ich dapat masuk ke dalam lapisan epitel (Stanley, 1995).

Kendala yang dihadapi oleh petani ikan selama ini adalah sulitnya mengatasi serangan yang disebabkan oleh Ich terutama pada stadia infeksi yaitu stadia theron, karena stadia ini dapat bertahan hidup di luar tubuh ikan dan bergerak bebas di dalam air menggunakan silia selama 96 jam, apabila tidak menemukan inang setelah 96 jam tersebut maka theron akan mati, Stanley, 1995.

3.2. Peran Komposisi Media Buatan untuk Kultur *Ichthyophthirius multifiliis*

Untuk mengetahui kondisi esensial dari suatu organisme perlu dilakukan percobaan-percobaan dengan menggunakan metode yang tepat dimana perbedaan yang kecil dapat terdeteksi di dalam media. Selanjutnya dikatakan juga bahwa kebutuhan dari suatu organisme akan makanan tertentu mempunyai dua implikasi yakni, 1) berarti bahwa substansi-substansi tersebut digunakan untuk membuat komponen esensial, dan 2) komponen-komponen tersebut tidak dapat disintesa oleh organisme itu sendiri atau disintesa dalam jumlah kecil, Wys *et al dalam* , Syawal, 1998.

Komposisi yang perlu diperhatikan untuk media parasit protozoa antara lain mengandung, garam-garam, sumber energi (kharbohidrat), buffer tambahan, pH dan

purine. Untuk mencegah adanya kontaminasi dengan bakteri dapat ditambahkan antibiotik (khususnya penisilin G dan Streptomisin), Gutteridge dan Cooms, 1977 ; Ekless dan Mathews, 1993.

Pemilihan media yang tepat merupakan hal yang sangat penting untuk membuat kultur, hal ini dikarenakan adanya sejumlah bahan nutrisi yang hanya mampu menunjang pertumbuhan sejumlah sel tertentu. Dengan alasan ini maka jumlah dan kualitas bahan nutrisi yang tersedia dalam media sangat menentukan pertumbuhan sel. Pemilihan medium yang salah akan menyebabkan pertumbuhan sel terganggu, Malole (1990).

Na_2HPO_4 merupakan senyawa yang bersifat garam dan berfungsi untuk menstabilkan pH sehingga aktivitas kerja enzim yang bertindak sebagai katalisator untuk segala reaksi dalam sel dapat bekerja secara maksimum. Na_2HPO_4 terdiri dari kandungan natrium dan fosfat, natrium penting dalam mempertahankan tekanan osmotik cairan sel , sedangkan fosfat berperan dalam proses pencernaan (Martin *et al.*, 1987 dan Girindra, 1993).

Serum merupakan cairan yang keluar dari darah setelah membeku. Sesungguhnya serum adalah plasma darah yang tidak lagi mengandung fibrin, dan zat-zat lainnya, serum di dalam media kultur berfungsi untuk menstimulasi pertumbuhan, aktivitas sel, membantu perlekatan, dan penyebaran sel dalam media, Godman, 1999.

Komplemen merupakan sistim enzimatik yang berbentuk sebagai protein dalam serum dan akan mempunyai efek apabila telah mengalami aktivasi. Susunan komplemen yang berperan dalam media kultur adalah C3, komplemen C3 ini

merupakan komponen yang berfungsi sebagai substrat enzim berbentuk β 2- globulin akan dipecah oleh enzim konvertase membentuk C3a dan C3b. C3b inilah yang berperan pada pertumbuhan pada kultur *in vitro*, serum dengan kandungan C3 sedikit akan mempengaruhi perkembangan parasit dalam media, Subowo (1993).

Pepton dan proteosa dijelaskan dalam terminologi sebagai bahan antara peptida dan protein. Proteosa didefinisikan sebagai kelompok turunan protein antara protein asal dan pepton. Sedangkan pepton merupakan campuran larut air dari proteosa dan asam amino turunan albumin, daging atau susu. Sifat-sifatnya antara lain larut dalam air, tidak terkoagulasi atau tahan terhadap panas, tetapi dapat diendapkan dengan amonium sulfat dan seng sulfat. Pepton digunakan sebagai nutrisi dalam media kultur bakteri, Peterson dan Jhonson *dalam* Fachraniah, 2002.

Pepton merupakan produk yang dihasilkan dari bahan-bahan yang mengandung protein seperti kasein, daging, gelatin. Penguraian bahan-bahan protein tersebut dapat dilakukan dengan asam atau enzim, pepton mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menunjang pertumbuhan. Pepton sebagai sumber nitrogen organik dapat mengandung vitamin dan ada pula yang mengandung karbohidrat. Selanjutnya dikatakan juga bahwa pepton adalah hidrolisat protein yang dibuat dari bahan-bahan berprotein tinggi seperti daging, ikan, kasein, gelatin, tepung kedelai, keratin, khamir, biji kapas, biji bunga matahari dan lain-lain, Bridson dan Brecker *dalam* Rahman, 2003.

Ganiswarna *et al.*, 1995 menyebutkan bahwa antimikroba merupakan obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba patogen. Sedangkan antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi yang dapat membasmi mikroba

lain. Penisilin G atau disebut juga *Benzylpenicilline* satuan daya aktivitas potensi penisilin dinyatakan dalam 2 jenis satuan, yaitu unit international (International Unit/ IU) dan milligram. Konversi dari ke dua jenis satuan tersebut adalah IU sama dengan 0,6 gram mikrogram. Mekanisme kerja penisilin G sama dengan antibiotika beta laktam yang lain, yaitu dengan mengadakan ikatan terhadap *penisilin-binding proteins* (PBPs) bakteri yang kemudian dapat menyebabkan gangguan atau hambatan sintesis dinding sel bakteri karena gangguan proses transpeptidase antar rantai peptidoglikan. Kemudian terjadi aktivitas enzim proteolitik dinding sel yang menyebabkan lisisnya sel bakteri.

3.3. Kultur *Ichthyophthirius multifiliis* Secara *in vitro*

Ekless dan Matthews (1993) mengatakan bahwa *Ichthyophthirius multifiliis*, telah berhasil diisolasi secara axenically untuk semua tahap dari siklusnya. Tomit tanpa kista dapat bertahan hidup maksimum 22 hari apabila diinkubasi dalam media EMEM ("Eagle's Minimum Essential Medium") tanpa serum, "theron" dapat bertahan hidup lebih lima hari di dalam EMEM, tiga hari lebih lama dari kontrol, trophon dapat hidup tanpa berkembang selama 16 hari dalam EMEM modifikasi Glasglow.

Syawal, 1998 menyebutkan bahwa theron dapat bertahan hidup di dalam media selama 20 hari, media yang digunakan mengandung Pepton, agar, glukosa, bovin serum, dan Na_2HPO_4 , sedangkan untuk mempertahankan stadia trophozoid di dalam media 199 mampu bertahan selama 16 hari tanpa berkembang.

Syawal dan Aryani, 2000 melaporkan bahwa Ich dapat diisolasi dari stadia trophozoid, kemudian dikultifasi dalam media buatan modifikasi Syawal (1998) setelah diinkubasi selama 30 jam dapat menghasilkan theron dan theron ini dapat dipertahankan selama 10 sampai 15 hari. Keberhasilan ini sangat tergantung pada suhu dan ukuran trophozoid yang dikultur.

Adanya perbedaan waktu yang dibutuhkan stadia trophozoid untuk berubah menjadi theron dan kelangsungan hidup theron di dalam media, diduga karena formulasi media yang digunakan komposisinya berbeda. Hasil terbaik adalah pada media yang mengandung kaldu ikan dan ditambahkan serum ikan pada saat inokulasi, sehingga trophozoid yang dikultur cepat beradaptasi dan menghasilkan theron selanjutnya theron juga dapat dipertahankan dalam media ini Syawal dan Aryani, 2000.

Akhlaghi, Mortezaei, dan Abbasi, 2002 mengatakan bahwa Ich stadia trophozoid dapat dipertahankan selama 20 hari dalam media EMEM dan ditambahkan serum Fetal calf atau serum ikan, protease pepton dan yeast extract (PPE), nutrien brooth (NB), PBS, akuades, dan penisilin streptomycin, sedangkan stadia theron minimum 96 jam dan maksimum 114 jam. Selanjutnya dikatakan juga tidak ada perbedaan antara yang diberi serum fetal calf dengan serum ikan.

3.4. Patogenitas dan Histopatologi

Patogenitas Ich dimulai ketika theron sudah menempel pada permukaan tubuh ikan atau inang, dan kerusakan jaringan dalam bentuk nekrosis mulai terlihat pada epidermis ikan setelah dua jam pasca infeksi, ini berarti bahwa setelah agen ich kontak

dengan ikan dan masuk ke bagian epidermis selanjutnya ich mengeluarkan enzim yang bersifat racun bagi jaringan sehingga terbentuk nekrosis. Nekrosis berkembang hingga ke lapisan spongiosum dua jam pasca infeksi. Pada waktu 3 – 48 jam pasca infeksi nekrosis terjadi dari epidermis sampai ke lapisan kopaktum, sehingga menyebabkan sistim osmoregulasi ikan terganggu dan akibatnya kesetimbangan ion-ion di tubuh juga menjadi tidak stabil serta berakhir dengan kematian, Mulyana, 1999.

Dehai Xu *et al*, 2000 mengatakan bahwa theron adalah stadia infeksi dari Ich yang menyerang ikan *Lepomis macrochirus*, kemudian menempel dan berkembang menjadi trophon (trophozoid) serta bergerak secara memutar pada jaringan epidermis ikan tersebut. Lebih dari 88 % theron dapat menempel pada sirip, insang dan kulit setelah satu jam pasca infeksi. Trophon berkembang dan meningkat diameternya menjadi $30 \pm 3,1 \mu\text{m}$ setelah 4 jam pasca infeksi pada organ insang, peningkatannya 9,6 % rata-rata 1,2 % / jam dari 4 sampai 8 jam pasca infeksi.

Mulyana, 1999 melaporkan bahwa satu jam pasca infeksi, benih ikan jambal siam mulai terinfeksi oleh agen Ich stadia theron, kematian ikan akan lebih cepat terjadi pada peningkatan kepadatan theron yang diinfeksi. Selanjutnya juga dikatakan terjadinya nekrosis pada epidermis terjadi pada satu jam pasca infeksi, nekrosis terjadi pada epidermis hingga lapisan spongiosum setelah dua jam pasca infeksi. Intensitasnya sangat tinggi (rata-rata intensitas 181,3 – 425,5 sel) serta mampu menyebabkan kematian total ikan dalam waktu 4 hari setelah penginfeksi. Respon mukus ikan jambal siam terhadap agen Ich ditunjukkan dengan meningkatnya kemampuan penghambatan pergerakan theron.

Sehubungan dengan proses penetrasi trophon terjadi hyperplasia epitel, kerusakan struktur dan ini merupakan akhir penyerangan trophon. Nekrosis dari sel epitel akibat masuknya trophon ke jaringan setelah dilakukan pemaparan theron dalam jumlah yang banyak. Invasi secara besar-besaran pada integumen juga terlihat perubahan inflamatori, infiltrasi dari sel-sel darah putih dan edema, semua ini sama dengan reaksi hypersensitif (Ventura dan Paperna, 1985). Selanjutnya dikatakan kapan saja keberadaan trophon dalam proses proliferasi di jaringan epitel, maka akan dikelilingi oleh reruntuhan sel-sel basofil dan eosinofil, pycnotic nuklei atau whole atrophic, sel nekrosis, ini terdapat di intraseluler atau dikelilingi oleh sel-sel aktif yang tidak dapat diidentifikasi sebagai makrofag.